

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-120586

(43) 公開日 平成10年(1998) 5月12日

(51) Int.Cl.⁵
A 6 1 K 35/78

識別記号
A E D
A B E
A B N

F I
A 6 1 K 35/78

A E D C
A B E H
A B N

審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平8-297575

(22) 出願日 平成 8 年(1996)10月18日

(71) 出願人 000249908

有限会社野々川商事

愛知県名古屋市中区丸の内 3 丁目 5 番 24 号

(72) 発明者 田中 浩

名古屋市西区鳥見町 2-7 日本メナード
化粧品株式会社総合研究所内

(54) 【発明の名称】 セリンプロテアーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【目的】セリンプロテアーゼ阻害剤を提供する。

【構成】本発明はマンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物、アカブドウ抽出物から選ばれる一種または二種以上からなるセリンプロテアーゼ阻害剤である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 マンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物、アカブドウ抽出物から選ばれる一種または二種以上を含むセリンプロテアーゼ阻害剤。

【請求項2】 マンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物、アカブドウ抽出物から選ばれる一種または二種以上のセリンプロテアーゼの阻害剤としての使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、マンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物、アカブドウ抽出物から選ばれる一種または二種以上のセリンプロテアーゼの阻害剤としての使用に関する。

【0002】

【従来の技術】セリンプロテアーゼ阻害剤は動物、植物中に広く分布しており、例えば動物由来のものとしては、ウシ、ブタ、ヒツジの脾臓、耳下腺、リンパ腺などから分離されており、植物由来のものとしてはダイズ、コムギ、トウモロコシなどから分離されている。セリンプロテアーゼ阻害剤の応用例として抗炎症剤（特開平3-176499号公報）、臨床検査薬（特開平3-279859号公報）、急性循環不全およびそれにともなう臓器機能不全に対する治療薬（特開平3-227941号公報）がある。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明はセリンプロテアーゼ阻害剤を提供し、その用途拡大を目的としたものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明のセリンプロテアーゼ阻害剤は、本発明者らによる植物および雑種細胞抽出物のセリンプロテアーゼ阻害活性の検討中、その活性を認め、本発明を完成するに至った。

【0005】本発明のセリンプロテアーゼ阻害剤は、次に示される方法により得られる。例えば、マンゴスチン（学名 *Garcinia mangostana* の種皮など）、トウニン（学名 *Prunus persica* (L.) Batsch および *Prunus persica* (L.) Batsch var. *dauidiana* Maxim の成熟した種子など）、バントウ（学名 *Prunus persica* (L.) Batsch var. *platycarpa* Bailey の葉など）、イチヤクソウ（学名 *Pyrola japonica* K. の全草など）、アルテア（学名 *Althaea officinalis* の根など）、マンネンロウ（学名 *Rosmarinus officinalis* L. の全草など）、ユキ

ノシタ（学名 *saxifraga stolonifera* Meerb. の全草など）、ボダイジュ（学名 *Ficus religiosa* Linne の葉など）、ハマメリス（学名 *Hamamelis virginiana* Witch hazel の葉および樹皮など）、アカブドウ（学名 *Vitis vinifera* L. の葉など）を水、エタノール、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコールなどの水溶性溶媒の単独あるいはそれらの混合溶媒によって加熱あるいは常温にて抽出し、その抽出液をそのままあるいは濃縮して利用することができる。また、抽出液を凍結乾燥してもよい。

【0006】本発明のセリンプロテアーゼ阻害剤は、乾固物として0.0001～10重量%の濃度で用いることができる。0.0001重量%以下の濃度では十分な効果が得られず、10重量%以上の濃度では効果の増強がみられず不経済である。

【0007】

【実施例】次に本発明を詳細に説明するため実施例を挙げるが、本発明はこれに限定されるものではない。

【0008】実施例-1

マンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物およびアカブドウ抽出物は各原材料に対して10倍量の50%エタノール水溶液を加え、室温で7日間、時々振とうしながら抽出した後、ろ紙で濾過したものをを用いた。

【0009】

【発明の効果】次に、本発明の効果を詳細に説明するため、実験例を挙げる。

【0010】実験例-1 セリンプロテアーゼ活性阻害作用

マンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物およびアカブドウ抽出物のトリプシン活性に対する阻害実験を行った。トリプシン（シグマ社）を0.1M Tris-HCl (pH7.5) 緩衝液に溶解して100U/mlの酵素溶液を調製した。0.5mlの0.1M Tris-HCl (pH7.5) 緩衝液に440μlの水、50μlの被験液（各抽出物を乾固物として1(w/v)%含む）および10μlの酵素溶液を加え、30℃で2分間保温した。次に、10μlの10mM Boc-Phe-Ser-Arg-MCA（ペプチド研）DMSO溶液を加え、1時間の反応後、1mlの反応停止液を加え、遊離したAMCの蛍光強度を測定した。抽出物無添加時の活性に対する添加時の活性の値から、活性阻害率を求めた。その結果、表1に示すようにマンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物およびアカブドウ抽出物はトリプシン活性に対し、阻害効果を示した。その阻害率は45.4%～

100.0%であった。

【0011】

*【表1】

*

表1 トリプシン活性阻害作用

試料	トリプシン阻害率 (%)
マンゴスチン抽出物	79.5
トウニン抽出物	48.1
バントウ抽出物	45.4
イチヤクソウ抽出物	100.0
アルテア抽出物	71.3
マンネンロウ抽出物	67.6
ユキノシタ抽出物	93.8
ボダイジュ抽出物	85.0
ハマメリス抽出物	69.5
アカブドウ抽出物	95.4

【0012】実験例-2 エラスターゼ活性阻害作用
マンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物およびアカブドウ抽出物のエラスターゼ活性に対する阻害実験を行った。カゼインを基質として含む、ポリアクリルアミドゲルを作製し、50U/mlのエラスターゼ（シグマ社）を試料とした電気泳動を行った。その後、このゲルごとトリス-塩酸緩衝液中で37℃で20時間酵素基質反応を行った。この際、各抽出物を0.25 (w/v) %の濃度で緩衝液中に添加した。反応終了後、ゲル ※

※ルをタンパク染色すると、エラスターゼの活性は染色されないバンドとして検出される。このバンドをデンストメーターにて定量し、抽出物無添加時の活性に対する添加時の活性の値から、活性阻害率を求めた。その結果、表2に示すようにマンゴスチン抽出物、トウニン抽出物、バントウ抽出物、イチヤクソウ抽出物、アルテア抽出物、マンネンロウ抽出物、ユキノシタ抽出物、ボダイジュ抽出物、ハマメリス抽出物およびアカブドウ抽出物はエラスターゼ活性に対し、阻害効果を示した。その阻害率は50.8%~95.0%であった。

【0013】

表2 エラスターゼ活性阻害作用

試料	エラスターゼ阻害率 (%)
マンゴスチン抽出物	95.0
トウニン抽出物	74.8
バントウ抽出物	50.8
イチヤクソウ抽出物	61.2
アルテア抽出物	60.8
マンネンロウ抽出物	54.9
ユキノシタ抽出物	92.9
ボダイジュ抽出物	77.3
ハマメリス抽出物	68.1
アカブドウ抽出物	81.7